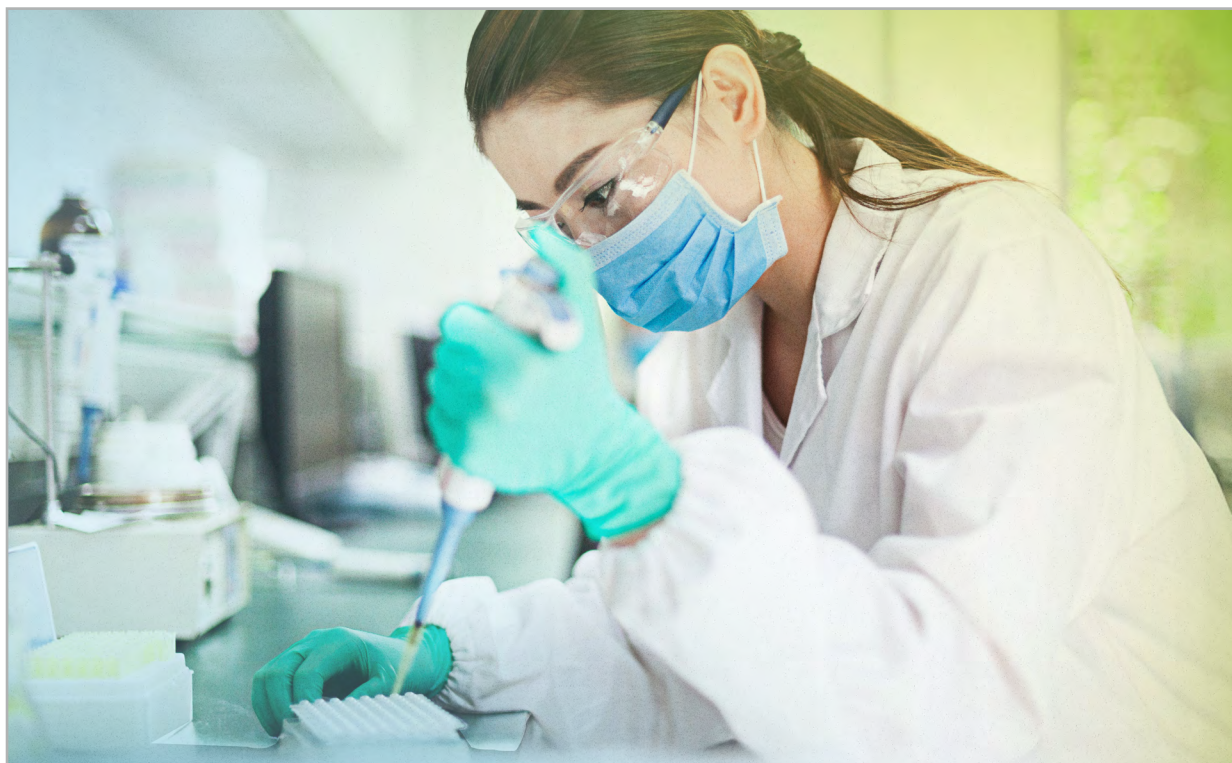




Bio-Rad Laboratórios – Brasil

Algoritmo:
*Como prever o significado
clínico dos anticorpos
eritrocitários?*

BIO-RAD



SUMÁRIO

Introdução.....4

1 Anticorpos anti-eritrocitários e sua relevância clínica..... 5

1.1 - Fatores Dependentes do Antígeno..... 5

1.2 - Fatores Dependentes do Anticorpo..... 6

2 O Papel Decisivo das Subclasses de IgG: IgG1 e IgG3..... 7

2.1 - Características das subclasses de IgG..... 8

3 Protocolo de Testes para Predição do Significado Clínico de Anticorpos utilizando Cartelas Bio-Rad..... 11

3.1 - Implicações Clínicas na Anemia Hemolítica Autoimune (AHAI)..... 11

3.1 - Implicações Clínicas na Presença de Aloanticorpos..... 12

4 O Ensaio da Monocamada de Monócitos (MMA) como Ferramenta Funcional..... 13

4.1 - Técnica MMA (Monocyte Monolayer Assay)..... 14

4.2 - Vantagens do MMA..... 15

4.3 - Limitações do MMA..... 15

5 Trabalhos apresentados nos Congressos Brasileiros de Hematologia e Hemoterapia e ISBT (2024 e 2025) 16

5.1 - Implicações Práticas e o Futuro da Imuno-hematologia.....	19
5.2 - Imuno-hematologia - Abstract na integra Hemo 2024 Determinação das Subclasses de IgG1 e IgG3.....	21
5.3 - Imuno-hematologia - Abstract na integra Hemo 2024 Previsão do Risco de Hemólise Imune Pós-Transfusão.....	27

6 Algoritmo de Interpretação do Teste de Antiglobulina Direta (TAD) com Presença de IgG..... 30

Passo 1 - Realização do Teste Inicial.....	30
Passo 2 - Determinação Classe do Anticorpo Fração de Complemento (DC SCREENING I).....	30
Passo 3 - Avaliação da Força da Reação Anti-IgG.....	31
Passo 4 - Avaliação da Titulação de IgG (Para Casos de Anti-IgG $\geq 2+$).....	32
Passo 5 - Avaliação da Subclasse IgG: IgG1/IgG3 (para casos de título de IgG do TAD $> 1:30$).....	35

Resumo dos Possíveis Resultados Finais e Riscos Associados..... 38

Referências Bibliográficas Consultadas e Recomendadas..... 39



Como prever a importância clínica dos anticorpos eritrocitários?



Neste E-book iremos abordar os testes imuno-hematológicos para a predição de significado clínico de anticorpos séricos ou ligados às hemácias, com foco especial na classificação de subclasses IgG e a titulação das subclasses IgG1 e IgG3.

INTRODUÇÃO:

As cartelas de gel-teste revolucionaram a capacidade de prever o risco de hemólise ocasionada por alo ou autoanticorpos anti-eritrocitários, simplificando a prática em imuno-hematologia laboratorial.

Vamos desvendar juntos como a identificação dessas subclasses de IgG e a quantificação de seus títulos, sugerindo aqueles que podem ser verdadeiros “vilões” ou “mocinhos” na história do paciente, influenciam diretamente a segurança transfusional e o manejo clínico.



Para começar, é fundamental compreender: o que torna um anticorpo eritrocitário clinicamente relevante?

Por definição, anticorpos com significado clínico: *“são anticorpos (alo ou auto) capazes de iniciar / acelerar destruição celular das hemácias transfundidas, assim como autólogas. Podem causar eventos adversos após transfusão ou transplante de componentes sanguíneos e / ou podem causar doença hemolítica do feto e do recém-nascido.”*

Isso significa que nem todo anticorpo detectado nos testes laboratoriais, como no teste direto (TAD) ou indireto da antiglobulina humana (pesquisa de anticorpos irregulares ou PAI), realizados no sangue de um paciente representa uma ameaça imediata. A verdadeira importância reside nesses anticorpos de causar hemólise *in vivo*, seja em transfusões subsequentes, gravidez ou anemias hemolíticas autoimunes.

A avaliação da relevância clínica de um anticorpo não é demonstrada apenas pela **“positividade”** encontrada nos testes imuno-hematológicos de triagem/ identificação de anticorpos ou nas provas cruzadas pré-transfusionais, mas sim, envolve diversos fatores interdependentes, relacionados aos antígenos e anticorpos:

1.1 - FATORES DEPENDENTES DO ANTÍGENO

- **Localização dos antígenos na membrana eritrocitária:** Onde o antígeno está situado pode influenciar a acessibilidade e a eficácia da ligação do anticorpo.
- **Quantidade de Anticorpo/Complemento que se liga ao antígeno membranar:** Uma maior quantidade de ligação geralmente correlaciona-se com um maior potencial de dano.
- **Presença do antígeno em outros tecidos/fluidos:** Se o antígeno estiver presente em outros locais, a reação pode ter implicações mais amplas.



1.2 - FATORES DEPENDENTES DO ANTICORPO

- **Auto ou Aloanticorpo:** Se é produzido contra os próprios glóbulos vermelhos (auto) ou contra antígenos de outros indivíduos (alo).
- **Classe e Subclasse de IgG:** Este é o alvo da nossa discussão, pois diferentes subclasses possuem distintas capacidades efectoras.
- **Capacidade de fixar Complemento:** A ativação do sistema complemento é um mecanismo potente de agravamento da hemólise e depende da classe do anticorpo/ subclasse da IgG.
- **Intensidade de reação e reatividade em fase de antiglobulina humana:** Indicadores da força da interação anticorpo-antígeno.
- **Especificidade:** Com base em dados de literatura e ensaios *in vitro*.

Essa abordagem multifacetada é crucial para diferenciar anticorpos que são meros “*mocinhos*” (não oferecem grande risco) dos verdadeiros “*vilões*” (com alto potencial hemolítico).

PORTANTO: A pesquisa e caracterização de anticorpos anti-eritrocitários (aloanticorpos e autoanticorpos) são fundamentais na imuno-hematologia para garantir a segurança transfusional, diagnosticar a Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) e gerenciar Anemias Hemolíticas Autoimunes (AHA). No entanto, a simples presença de um anticorpo IgG no Teste de Antiglobulina Direto (TAD) ou Indireto (TAI) não é suficiente para prever a magnitude da destruição eritrocitária.

A chave para compreender o potencial patogênico reside na determinação da subclasse da imunoglobulina (IgG) envolvida, sendo as subclasses IgG1 e IgG3 as mais importantes pois influenciam diretamente o mecanismo e a severidade da hemólise.

Além disso, para uma predição mais direta da destruição eritrocitária *in vivo*, especialmente a extravascular, discutiremos uma outra ferramenta funcional de grande valor, o Ensaio da Monocamada de Monócitos ou **Monocyte Monolayer Assay**.



As características estruturais dos anticorpos, incluindo o isotipo, subclasse e glicosilação, são cruciais para determinar sua capacidade de ativar o sistema complemento e, portanto, em agravar o processo de hemólise.

A IgG, como a principal imunoglobulina no sangue, é fundamental na resposta imune. No entanto, ela não é uma entidade única; é dividida em quatro subclasses: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. E, como um *time de super-heróis*, nem todas as subclasses têm os mesmos poderes ou o mesmo potencial destrutivo.

As subclasses possuem diferenças estruturais que determinam suas capacidades efectoras, influenciando no mecanismo e a severidade da hemólise.

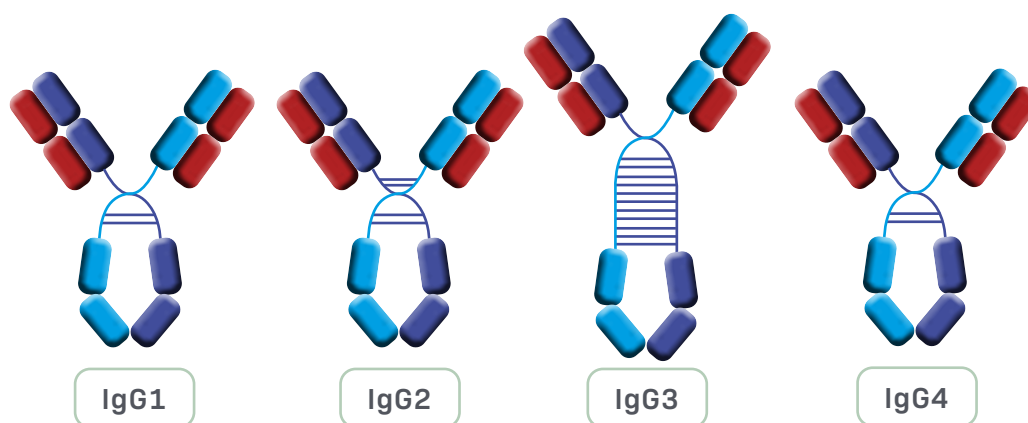


Figura 01. Estruturas de diferentes subtipos de IgG

2.1 - CARACTERÍSTICAS DAS SUBCLASSES DE IgG

Subclasse IgG	Ativação do Complemento	Interação com FcγR	Relevância Clínica
IgG1	● Capaz de ativar a via clássica do complemento, embora de forma menos eficiente que a IgG3. ● Geralmente não progride até o complexo de ataque à membrana (C5b-9), mas deposita C3b na superfície eritrocitária, que atua como uma potente opsonina, potencializando a fagocitose.	● Possui alta afinidade pelos receptores Fcγ ativadores (FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIIa) presentes em fagócitos, sendo uma causa potente e consistente de hemólise extravascular clinicamente significativa.	● É a subclasse mais comum na Anemia hemolítica autoimune (AHAI) do tipo quente
IgG2	● Ativa o complemento de forma muito fraca ou ineficiente. Sua estrutura molecular dificulta a ligação de C1q.	● Apresenta baixa afinidade pela maioria dos receptores Fcγ ativadores.	● É considerada a subclasse com o menor potencial hemolítico. ● Se encontrada isoladamente, raramente causa hemólise severa: TAD positivo com pouca ou nenhuma manifestação clínica.
IgG3	● É a mais eficiente na ativação da via clássica do complemento. ● Sua longa e flexível região de dobradiça permite uma excelente exposição dos sítios de ligação para C1q, podendo levar à formação do complexo de ataque à membrana e, consequentemente, à hemólise intravascular aguda.	● Maior afinidade entre todas as subclasses pelos receptores Fcγ ativadores, mediando uma fagocitose extremamente eficiente.	● Embora menos comum que a IgG1, a IgG3 está associada aos quadros mais graves de AHAI, com hemólise mista (intravascular e extravascular) e anemias profundas de rápida instalação.
IgG4	● Não ativa a via clássica do complemento.	● Possui afinidade moderada por FcγRI, mas baixa afinidade pelos demais receptores ativadores. ● Curiosamente, pode interagir com o receptor inibitório FcγRIIb.	● Seu papel é complexo. Isoladamente, a IgG4 é um fraco mediador de hemólise. Em alguns contextos, pode até competir com IgG1 e IgG3 pelos antígenos, exercendo um efeito “bloqueador” e atenuando a hemólise. ● No entanto, sua presença não exclui a possibilidade de destruição eritrocitária, especialmente em altas concentrações.

Tabela 01. Características das Subclasses de IgG

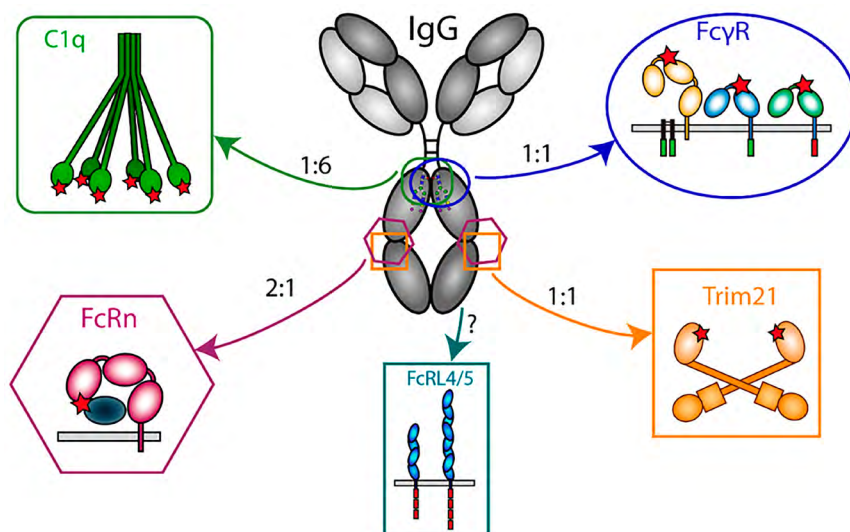


Figura 02. Interação da IgG com moléculas efetoras Fc. Representação esquemática da IgG e de todas as moléculas que interagem com Fc (componente do complemento (C1q), receptores Fc gama (FcγR), receptor Fc neonatal (FcRn), motivo tripartido 21 (Trim21) e moléculas semelhantes a receptores Fc (FcRL) 4 e 5), por meio das quais os anticorpos exercem sua atividade biológica. Para cada ligante, o sítio de ligação na IgG e a estequiometria da interação com a IgG são indicados. As estrelas vermelhas representam o sítio de ligação da IgG nas moléculas efetoras Fc.

De Taeye, Steven & Rispen, Theo & Vidarsson, Gestur. (2019). The Ligands for Human IgG and Their Effector Functions. *Antibodies*. 8. 30. 10.3390/antib8020030.

As diferentes subclasses têm diferentes funções efetoras, tanto em termos de ativação de células que expressam FcγR, resultando em fagocitose ou citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos, quanto em ativação do complemento.

As regiões Fc também contêm um epítipo de ligação para o receptor Fc neonatal (FcRn), responsável pela meia-vida estendida, transporte placentário e transporte bidirecional de IgG para superfícies mucosas.

Implicações para doenças e terapêuticas: A compreensão das diferenças entre subclasses e alótipos de IgG pode fornecer insights sobre a suscetibilidade a várias doenças (infecciosas, aloimunes e autoimunes) e potencialmente melhorar as terapias baseadas em anticorpos.



Resumindo: Aqui é onde as subclasses IgG1 e IgG3 se destacam como os mais formidáveis “vilões” potenciais em termos de capacidade hemolítica:

- **Ativação do Sistema Complemento:** As subclasses **IgG1** e **IgG3** são reconhecidas como as mais eficientes em ativar a via clássica do sistema complemento, principalmente devido à sua forte ligação ao C1q.
- **A ativação do complemento pode levar a:**
 - **Lise intravascular direta dos eritrócitos:** Destruição das células vermelhas dentro dos vasos sanguíneos.
 - **Opsonização:** Revestimento dos eritrócitos, tornando-os alvos para a destruição por macrófagos no baço e fígado (hemólise extravascular).
- **Ligação a Receptores Fc:** IgG1 e IgG3 também possuem alta afinidade por receptores Fc (FcγR) presentes em células fagocíticas, como macrófagos. Essa ligação facilita enormemente a remoção dos eritrócitos sensibilizados da circulação, contribuindo para a hemólise extravascular.
- Por outro lado, **IgG2** e **IgG4** mostram capacidades reduzidas de ativação do complemento e menos afinidade por receptores Fc, tornando-os menos propensos a causar hemólise significativa, mesmo quando presentes.
- A compreensão dessas diferenças é vital, pois a simples presença de IgG não é suficiente; é preciso saber qual subclasse de IgG está presente.



A jornada para desvendar o significado clínico dos anticorpos anti-eritrocitários segue um protocolo que combina a detecção inicial, a identificação das subclasses e a quantificação do risco, culminando, se necessário, em uma avaliação funcional. A tecnologia em gel, como as cartelas Bio-Rad, revolucionou essa prática, simplificando os procedimentos.

Predição da Severidade da Hemólise em Diferentes Cenários Clínicos

A aplicação prática dessa análise detalhada das subclasses de IgG e da titulação é vasta e impacta diretamente a segurança do paciente em diversas situações.

3.1 - IMPLICAÇÕES CLÍNICAS NA ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE (AHAI)

Na AHAI do tipo quente, a identificação da subclasse do autoanticorpo IgG é um forte indicador prognóstico:

- **Predominância de IgG1 e/ou IgG3:** Geralmente correlaciona-se com hemólise ativa e anemia clinicamente significativa, exigindo intervenção terapêutica. A presença de IgG3 sinaliza um risco aumentado para crises hemolíticas agudas e severas.
- **Predominância de IgG2 ou IgG4:** Pode explicar casos de TAD positivo persistente com hemólise compensada ou ausente. Esses pacientes podem não necessitar de tratamento imediato, mas requerem monitoramento.
- **Combinação de Subclasses:** A presença simultânea de múltiplas subclasses (ex: IgG1 + IgG3) pode resultar em um quadro hemolítico complexo e de difícil manejo.

Dessa forma, a distinção é um divisor de águas, permitindo focar a atenção e o tratamento nos pacientes que realmente correm risco de hemólise, enquanto evita intervenções desnecessárias para aqueles com achados de laboratório menos significativos.



3.2 - IMPLICAÇÕES CLÍNICAS NA PRESENÇA DE ALOANTICORPOS

Hemólise Pós-Transfusional ou Fetal/Neonatal:

Sabendo-se da complexidade da membrana eritrocitária e dos numerosos sistemas de grupos sanguíneos e os antígenos eritrocitários, a aloimunização pode dificultar a seleção de glóbulos para transfusão bem como o manejo das gestantes aloimunizadas.

Em alguns casos, somente identificar a especificidade do anticorpo pode não ser suficiente para a predição do significado clínico dos aloanticorpos.

Pacientes que apresentam anticorpos dirigidos a antígenos de alta frequência populacional ou múltiplos aloanticorpos podem necessitar urgentemente de transfusão sanguínea, limitando a disponibilidade de unidades raras.

Nessas situações, avaliar *in vitro* a relevância biológica dos anticorpos anti-eritrocitários pode ser uma ferramenta importante para atender às necessidades de transfusão.

A identificação das subclasses IgG1/IgG3 é um “*mocinho*” que nos ajuda a respirar mais aliviado em situações onde, à primeira vista, um teste da antiglobulina humana positivo (direto ou indireto) poderia causar preocupação excessiva.

A ausência dessas subclasses de alto risco pode, em muitos casos, afastar a necessidade de transfusões imediatas, alteração de protocolos de tratamento ou monitoramento intensivo.



Enquanto a determinação da subclasse de IgG oferece um forte indício do potencial hemolítico, ela permanece uma avaliação indireta. Para uma predição mais direta da destruição eritrocitária *in vivo*, especialmente a extravascular, o Ensaio da Monocamada de Monócitos ou **Monocyte Monolayer Assay** (MMA), surge como uma ferramenta funcional de grande valor tanto para as situações de autoanticorpos ou aloanticorpos.

O que é o Teste da Monocamada de Monócitos?

O MMA é um ensaio *in vitro* que simula o principal evento da hemólise extravascular: a fagocitose de eritrócitos opsonizados por macrófagos do sistema reticuloendotelial.

O princípio do teste consiste em:

1. Isolar monócitos de um doador de sangue saudável e cultivá-los em uma lâmina ou placa de cultura, onde eles aderem e formam uma “monocamada”.
2. Sensibilizar eritrócitos-alvo (do doador da transfusão ou fenótipos de interesse) com o plasma do paciente contendo o anticorpo em estudo.
3. Incubar os eritrócitos sensibilizados com a monocamada de monócitos.
4. Após a incubação, quantificar a atividade fagocitária, geralmente expressa como um índice de fagocitose (número de eritrócitos fagocitados por 100 monócitos).

Um resultado positivo no MMA (índice de fagocitose acima de um limiar pré-definido, geralmente >5%) indica que o anticorpo é capaz de mediar eficientemente a destruição celular por fagócitos, prevendo uma hemólise extravascular clinicamente significativa.



4.1 - TÉCNICA MMA (MONOCYTE MONOLAYER ASSAY)

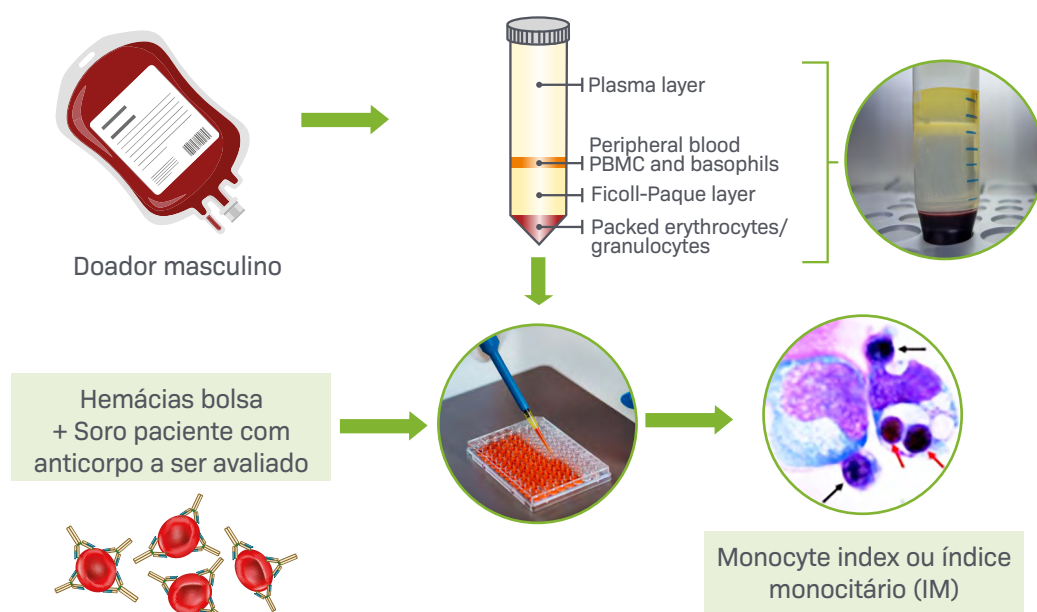


Figura 03. Esquema de técnica MMA

Aplicação na Predição de Reações Transfusionais

A principal utilidade do MMA é determinar o significado clínico de aloanticorpos, especialmente aqueles com reatividade variável descrita na literatura. Ele responde à pergunta crítica: “Se eu transfundir sangue antígeno-positivo para este paciente, haverá destruição eritrocitária clinicamente relevante?”.

Um MMA positivo sugere um alto risco de reação hemolítica transfusional tardia, justificando a busca por unidades de sangue antígeno-negativas, mesmo que raras. Por outro lado, um MMA negativo sugere que a transfusão de unidades antígeno-positivas, compatíveis na prova de compatibilidade, provavelmente será segura, otimizando o uso do estoque de sangue.

Análise Comparativa: Vantagens e Limitações

O MMA não substitui os testes sorológicos, mas os complementa. Sua posição deve ser entendida em comparação com os métodos padrão.



4.2 - VANTAGENS DO MMA

- Medida Funcional Direta
- Avalia o resultado biológico final (fagocitose), não apenas a presença do anticorpo.
- Alto Valor Preditivo
- Excelente correlação com a sobrevivência de eritrócitos *in vivo* e a ocorrência de hemólise.
- **Racionalização do Estoque:** Ajuda a evitar a busca desnecessária por unidades de sangue raras quando o anticorpo não é clinicamente significativo.
- **Ferramenta de Decisão:** Fornece dados objetivos para decisões clínicas complexas em transfusão e AHA.

4.3 - LIMITAÇÕES DO MMA

- **Complexidade Técnica:** Requer cultura celular, pessoal treinado e não é facilmente automatizável.
- **Disponibilidade Restrita:** Realizado primariamente em laboratórios de referência especializados.
- **Variabilidade Biológica:** A reatividade dos monócitos pode variar entre os doadores, exigindo controles rigorosos.
- **Custo e Tempo:** É mais caro e demorado que os testes sorológicos de rotina.

Em conclusão, o melhor ensaio da Monocamada de Monócitos é uma poderosa adição ao arsenal do imuno-hematologista. Ele permite uma avaliação funcional que vai além da sorologia, oferecendo uma visão mais clara do potencial destrutivo de um anticorpo e guiando decisões clínicas críticas para a segurança e o bem-estar do paciente.



Resumo de trabalhos apresentados nos **Congressos Brasileiro de Hematologia e Hemoterapia (2024 e 2025) e ISBT (2024 e 2025)**, com o objetivo de correlacionar a presença de subclasses IgG1 e IgG3 com a predição de risco de hemólise (MMA) no contexto dos aloanticorpos e autoanticorpos anti-eritrocitários.

OBJETIVOS

1. Comparar a frequência das subclasses IgG1 e IgG3 em pacientes e doadores de sangue que apresentam autoanticorpos eritrocitários.
2. Comparar o comportamento *in vitro* de autoanticorpos IgG das subclasses IgG1 e IgG3 versus subclasses não IgG1 e IgG3.
3. Mapear a relevância biológica de diferentes aloanticorpos eritrocitários (raros) comparando o comportamento *in vitro* com as subclasses IgG1 e IgG3.

RESULTADOS (HEMO 2024)

- **Pacientes:** Um total de 42 pacientes apresentou TAD monoespecífica positiva indicando IgG e foram incluídos no estudo
 - 9,5% eram RN (rotina mãe/RN)
 - 21,4% apresentaram aloanticorpos irregulares no eluato, sugerindo transfusões recentes incompatíveis
 - 69,1% apresentaram autoanticorpos com eluato pan-reactivo

Doadores de sangue: Um total de 68 doadores com TAD poliespecífica positiva foram inicialmente selecionados e, destes, 27 confirmaram TAD monoespecífica positiva com IgG e foram incluídos no estudo.



Classificação do Sujeito	IgG1 e/ou IgG3	Não IgG1 nem IgG3	Valor de p
Pacientes com auto-IgG (n=29)	15	14	<0,001
Doadores com auto-IgG (n=27)	1	26	
MMA resultado (n=12)			
IM>5%	5	2	0,07
IM<5%	1	4	

Tabela 02. Classificações IgG

RESULTADOS (HEMO 2025)

Pacientes: Um total de 17 pacientes aloimunizados apresentando anticorpos dirigidos a antígenos de alta ou baixa frequência foram incluídos no estudo.

	IgG1 ou IgG3		Não IgG1 ou IgG3	
	Frequência	MMA IM > 5%	Frequência	MMA IM < 5%
Anti-Ge2 (n=7)	71,4% (n=5/7)	60% (n=3/5)	28,6% (n=2/7)	100%
Anti-Jo ^a (n=2)	50% (n=1/2)	100% (n=1/1)	50% (n=1/2)	100%
Anti-Yt ^a (n=2)	50% (n=1/2)	0	50% (n=1/2)*	0
Anti-Vel (n=1)	100% (n=1/1)	100% (n=1/1)		
Anti-VS (n=1)	100% (n=1/1)	100% (n=1/1)		
Anti-Lw ^a (n=1)	100% (n=1/1)	100% (n=1/1)		
Anti-Js ^b (n=1)			100% (n=1/1)	100% (n=1/1)
Anti-Jr ^a (n=1)			100% (n=1/1)*	0
Anti-hr ^a (n=1)	100% (n=1/1)	100% (n=1/1)		

Tabela 03. Classificações IgG | *Grau de aglutinação < 1+ (aglutinação em coluna

IM: Índice monocitário | MMA: Ensaio monocamada monócitos



DISCUSSÕES

Uma das perguntas cruciais que efetuamos quando estamos diante de pacientes com TAD positivo e detecção de autoanticorpos ligados às suas hemácias e/ou autoanticorpos livres no soro do paciente é:

“Quando os autoanticorpos com Teste de Antiglobulina Direto (TAD) positivo causarão hemólise autoimune?”

Os resultados demonstraram frequência de autoanticorpos IgG1 ou IgG3 muito maior entre os pacientes do que entre os doadores. Isso sugere que a identificação de autoanticorpos não IgG1 ou IgG3 aponta para um contexto imunológico não patológico para o desenvolvimento de autoanticorpos.

Adicionalmente, os autoanticorpos IgG1 ou IgG3 apresentaram maior predição para a ocorrência de hemólise, conforme demonstrado pelos testes funcionais *in vitro* (MMA).

Outra grande preocupação na hemoterapia são anticorpos dirigidos a antígenos de alta frequência populacional, em que a importância clínica dos anticorpos é duvidosa.

Esses anticorpos podem estar envolvidos em reações transfusionais hemolíticas de leves a severas, ou mesmo ausente. A busca por unidades negativas é demorada e pode atrasar a transfusão.

“Quando os aloanticorpos contra antígenos de alta frequência populacional causarão hemólise autoimune?”

Os resultados demonstraram que as ferramentas discutidas nesse e-book tem grande valor e pode ser a solução para que os laboratórios de Imuno-hematologia consigam prever o significado clínico dos anticorpos eritrocitários.



CONCLUSÕES

- A determinação da subclasse de IgG pode ser uma ferramenta útil na prática laboratorial, principalmente porque a ausência de anticorpos IgG1 ou IgG3 pode descartar hemólise imune.
- Doadores com TAD positivo e autoanticorpos da subclasse não IgG1 ou IgG3 não precisam de acompanhamento específico, pois o risco de desfecho clínico é baixo. Doadores com autoanticorpos IgG1 ou IgG3 (incomum) devem ser convocados para aconselhamento clínico.
- O MMA é o padrão ouro para prever relevância clínica dos anticorpos anti-eritrocitários, no entanto, a classificação das subclasses IgG1 ou IgG3 tem alta precisão para identificar casos positivos de MMA.

5.1 - IMPLICAÇÕES PRÁTICAS E O FUTURO DA IMUNO-HEMATOLOGIA

A integração da análise de subclasses de IgG e da titulação em gel-testes no diagnóstico imuno-hematológico tem implicações práticas importantes!

- **Estratificação de Risco Precisa:** Permite aos médicos diferenciar com mais confiança pacientes com alto, moderado ou baixo risco de hemólise. Isso é fundamental para um planejamento terapêutico adequado, seja na escolha de unidades de sangue compatíveis, no manejo da gravidez de alto risco ou na instituição de tratamentos para doenças autoimunes.
- **Otimização de Recursos:** Ao identificar com clareza os “mocinhos” entre os anticorpos, evita-se a investigação excessiva, tratamentos desnecessários e o uso inadequado de recursos valiosos, beneficiando tanto o paciente quanto o sistema de saúde.



- **Melhoria da Segurança Transfusional:** A capacidade de prever a severidade da hemólise leva a transfusões mais seguras, minimizando o risco de reações transfusionais adversas e otimizando a seleção de hemocomponentes.
- **Avanço na Pesquisa e Desenvolvimento:** A compreensão aprofundada das características dos anticorpos, impulsionada por essas técnicas, abre caminho para o desenvolvimento de novos reagentes, métodos de teste e até mesmo terapias personalizadas em medicina transfusional.

CONCLUSÃO

Uma Abordagem Holística para a Saúde do Paciente

Em suma, a análise detalhada dos alo e autoanticorpos eritrocitários, com foco nas subclasses de IgG (IgG1 e IgG3) e sua titulação através de técnicas avançadas como a centrifugação em gel, é um pilar da imuno-hematologia moderna. Ela nos permite ir além da simples detecção de um anticorpo para entender seu verdadeiro potencial patogênico.

Esta abordagem permite aos profissionais de saúde:

1. **Identificar os “vilões” com precisão:** Reconhecendo os anticorpos que representam um alto risco de hemólise devido à sua subclasse (IgG1 e IgG3) e alta titulação.
2. **Tranquilizar-se sobre os “mocinhos”:** Concluindo que outros anticorpos ou subclasses (como IgG2 e IgG4, ou IgG1 em baixos títulos) têm um risco menor de causar problemas clínicos significativos.
3. **Adotar um manejo clínico proativo e personalizado:** Adaptando as estratégias de transfusão, monitoramento da gravidez ou tratamento de doenças autoimunes com base em evidências laboratoriais sólidas.



Os trabalhos apresentados demonstram que a relevância biológica dos anticorpos pode variar. As ferramentas para avaliação *in vitro* são necessárias na necessidade urgente de transfusões e no acompanhamento gestacional.

5.2 - IMUNO-HEMATOLOGIA ABSTRACT NA INTEGRA HEMO 2024

Determinação das Subclasses de IgG1 e IgG3 de Anticorpos de Glóbulos Vermelhos: Uma Ferramenta Importante para a Previsão da Hemólise Imuno-Mediada

Regina Cardoso¹, Taynara Vieira¹, Alfredo Mendrone-Junior¹, Carla Dinardo¹
Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

Os anticorpos anti-eritrocitários da classe IgG podem levar à hemólise em pacientes, dependendo de muitos fatores, incluindo a capacidade de ativar a cascata do complemento, a glicosilação do Fc, a especificidade do antígeno (no caso de aloanticorpos) e a avidéz do anticorpo, bem como a subclasse de IgG.

As IgGs, particularmente IgG1 e IgG3, são reconhecidas por células fagocíticas através de receptores Fc, encontrados em várias células endoteliais. Portanto, os GV revestidos com IgG1 e IgG3 são rapidamente reconhecidos para fagocitose, levando a um maior potencial de destruição dos GV.

Ferramentas laboratoriais que podem avaliar facilmente a quantidade e a subclasse de IgGs revestidas nos GV podem ajudar a prever o risco de hemólise em casos de anemia hemolítica autoimune devido a IgG (do “tipo quente”), em casos de transfusões incompatíveis (como no risco de reações transfusionais hemolíticas tardias) e em casos de doença hemolítica do feto e do recém-nascido.



Vários métodos, como a técnica convencional em tubo (CTT), a tecnologia de aglutinação em coluna (CAT) ou a citometria de fluxo (FC), podem ser usados para a detecção de imunoglobulinas e/ou fragmentos do complemento ligados aos GV. Em comparação com o CTT, o CAT é mais fácil de realizar e ler, exigindo menos volume de amostra e reagente. A FC é o método mais sensível, mas requer habilidades e materiais específicos que não estão prontamente disponíveis em todos os laboratórios de transfusão sanguínea.

OBJETIVOS DO ESTUDO

PRIMÁRIO

Correlacionar a presença das subclasses de IgG1 e IgG3 com o risco de hemólise no contexto de aloanticorpos e autoanticorpos eritrocitários.

SECUNDÁRIO

1. Comparar a frequência das subclasses de IgG1 e IgG3 em pacientes e doadores de sangue que apresentam autoanticorpos.
2. Comparar o comportamento *in vitro* de anticorpos IgG das subclasses IgG1 e IgG3 versus subclasses não-IgG1 e não-IgG3.
3. Avaliar a frequência das subclasses de IgG1 e IgG3 em casos de transfusões incompatíveis e doença hemolítica do feto e do recém-nascido.

MÉTODOS

Recrutamento e Testes de Pacientes e Doadores: Doadores de sangue e pacientes que apresentavam teste de antiglobulina direta (TAD) poliespecífico positivo (Bio-Rad, Cressier, cartão LISS/Coombs, ref. 004017) foram recrutados para um estudo de 2 meses num hospital terciário. As amostras incluídas foram testadas com eluição ácida e apenas os eluatos que reagiram com o painel ou hemácias de prova reversa foram incluídos no estudo.



Todos os doadores e pacientes selecionados foram subsequentemente testados com cartões de gel DAT monoespecíficos (Bio-Rad, Cressier, cartão DC Screening I com anti-IgG, -IgM, -IgA, -C3c, -C3d, ref. 004857), DAT IgG-diluição (Bio-Rad, Cressier, ref. 004033), que indica a quantidade de IgG ligada aos GV, e DAT IgG1/IgG3 (Bio-Rad, Cressier ref. 004043), que diferencia ainda mais as subclasses de IgG1 e IgG3.

Um ensaio de monocamada de monócitos (MMA) foi realizado em casos selecionados com autoanticorpos IgG de GV e os resultados foram expressos em termos de índice de monócitos (IM).

Comparações Estatísticas: Pacientes e doadores que apresentavam autoanticorpos IgG foram comparados quanto à frequência de IgG1 e IgG3 usando o teste de qui-quadrado. IgG1 e/ou IgG3 foram comparados a grupos não-IgG1 e não-IgG3 usando o teste exato de Fisher para as variáveis categóricas, e o teste de Mann-Whitney para as variáveis contínuas. Em todas as comparações, um valor de p inferior a 0,05 foi considerado significativo.

RESULTADOS

Descrição da População Estudada: Um total de 42 pacientes apresentou TAD monoespecífico positivo indicando IgG e foram incluídos no estudo. Destes, 4 (9,5%) eram recém-nascidos (RN) e os testes foram realizados como parte da rotina mãe/RN. Os outros pacientes (n=38) apresentavam um DAT positivo.

Os eluatos dos pacientes revelaram ou anticorpos irregulares com a mesma especificidade detectada na triagem e identificação de anticorpos irregulares, sugerindo transfusões incompatíveis recentes (n=9, 21,4%), ou IgGs com pan-aglutinação (n=29, 69%).

Um total de 68 doadores que apresentavam um TAD poliespecífico positivo foram inicialmente selecionados para o estudo e, destes, 27 confirmaram TAD monoespecífico positivo com IgG e foram incluídos no estudo.



Pacientes Recém-Nascidos (RN): Dos RN incluídos (n=4), os seguintes anticorpos foram identificados no eluato: anti-D (n=1), anti-C (n=1), anti-A (n=1) e anti-B (n=1).

Nenhum dos RN apresentou icterícia inesperada para justificar a quantificação de bilirrubina. A fototerapia também não foi indicada para nenhum deles. IgG1 e IgG3 não foram detectadas em todos os casos e C3d também estava ausente na membrana dos GV.

Reação Transfusional Hemolítica Tardia (RTHT) Sorológica: Nove pacientes tinham TAD positivo e anticorpos irregulares na membrana dos GV: anti-Jk^a (n=1), anti-Jk^b (n=1), anti-Fy^a (n=3), anti-E (n=2), anti-Fy^a, -c (n=1) e anti-c, -E (n=1).

A identificação de anticorpos foi solicitada como teste pré-transfusional para uma nova transfusão de GV e nenhum dos pacientes havia sido transfundido recentemente no centro de referência, sugerindo transfusões incompatíveis noutros serviços de saúde e reações transfusionais serológicas. Nenhum dos anticorpos envolvidos era IgG1 ou IgG3. Apenas um caso (anti-Jkb) teve C3d concomitante na membrana dos GV.

Pacientes com Autoanticorpos IgG: Dos 29 pacientes que apresentavam autoanticorpos da classe IgG, 15 (51,7%) apresentavam IgG1 ou IgG3 e 14 (48,3%) não tinham IgG1 nem IgG3. C3d foi concomitante em 7 (46,7%) pacientes com IgG1 ou IgG3 e em 3 (21,4%) pacientes sem IgG1 ou IgG3. Entre os 27 doadores de sangue que apresentavam autoanticorpos IgG, 26 (96,3%) não apresentavam IgG1 nem IgG3.

Uma significância estatística notável foi observada quando a frequência de IgG1 e IgG3 foi comparada entre doadores e pacientes ($p < 0,001$, Tabela 4). A presença de subclasses de autoanticorpos IgG1 ou IgG3 exibiu uma sensibilidade de 51,7%, especificidade de 96,3%, valor preditivo positivo (VPP) de 93% e valor preditivo negativo de 65% para distinguir doadores e pacientes com TAD IgG positivo.



Classificação do Sujeito	IgG1 e/ou IgG3	Não IgG1 nem IgG3	Valor de p
Pacientes com auto-IgG (n=29)	15	14	<0,001
Doadores com auto-IgG (n=27)	1	26	
MMA resultado (n=12)			
IM>5%	5	2	0,07
IM<5%	1	4	

Tabela 4. Comparação da presença de IgG1 e IgG3 num cenário clínico

A presença concomitante de C3d na membrana dos GV não diferiu significativamente entre autoanticorpos das subclasses IgG1 ou IgG3 e não-IgG1 e não-IgG3 (Tabela 5). Além disso, a presença de anticorpos irregulares nas amostras que apresentavam autoanticorpos IgG1 ou IgG3 não diferiu estatisticamente dos autoanticorpos não-IgG1 e não-IgG3 (Tabela 5). No entanto, autoanticorpos IgG1 ou IgG3 foram associados a pontuações de aglutinação significativamente mais altas no DAT ($p=0,01$, Tabela 5).

	IgG1 e/ou IgG3	Não IgG1 nem IgG3	Valor de p
Presença de complemento			
C3d+ (n=10)	7	3	0,1
C3d- (n=16)	5	11	
Aloanticorpos associados			
Com aloanticorpos (n=14)	7	7	0,22
Sem aloanticorpos (n=9)	2	7	
Intensidade de aglutinação (n=29)	211,5*	139,5*	0,01174

Tabela 5. Comparação de achados imuno-hematológicos entre autoanticorpos IgG1 ou IgG3 e autoanticorpos não-IgG1 e não-IgG3 - *Soma das forças de reação do TAD entre cada grupo.



O MMA foi realizado em 12 casos. A diferença entre IgG1 ou IgG3 versus não-IgG1 ou IgG3 resultando num índice de monócitos (IM) positivo (>5%) foi de 83,3% versus 33,3%. O valor de p foi de 0,07, refletindo o tamanho restrito da amostra.

DESTAQUES DO ESTUDO

- A presença de anticorpos das subclasses não-IgG1 e não-IgG3 foi associada a casos benignos de reações transfusionais serológicas e doença hemolítica do feto e recém-nascidos.
- A frequência de autoanticorpos IgG1 ou IgG3 foi muito maior entre pacientes do que doadores. Isso sugere que a identificação de autoanticorpos não-IgG1 e não-IgG3 aponta para um contexto imune não patológico para o desenvolvimento de autoanticorpos.
- Autoanticorpos IgG1 ou IgG3 apresentaram uma maior previsão de hemólise, conforme demonstrado por testes funcionais *in vitro*.

CONCLUSÕES CLÍNICAS

- A determinação da subclasse de IgG pode ser uma ferramenta útil nas práticas laboratoriais, porque a ausência de IgG1 e IgG3 pode excluir hemólise evidente e anemia clínica.
- Doadores com TAD positivo e autoanticorpos das subclasses não-IgG1 e não-IgG3 não necessitam de acompanhamento específico.
- Pelo contrário, doadores com autoanticorpos IgG1 ou IgG3 (incomum) devem ser encaminhados para aconselhamento clínico.



5.3 - IMUNO-HEMATOLOGIA ABSTRACT NA INTEGRA HEMO 2024

Previsão do Risco de Hemólise Imune Pós-Transfusão: Correlação entre a Presença das Subclasses IgG1 ou IgG3 e resultados de Ensaio Celulares *In Vitro*.

Cardoso, R; Vieira, T; Nivardo, CS; Conrado, MCAV; Alves, A.M.C, Reggiani, A; Mendrone-Junior, A; Rocha, V; Dinardo, CL. Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo, Brasil

INTRODUÇÃO

Os anticorpos eritrocitários da classe IgG podem levar à hemólise em pacientes dependendo de vários fatores, incluindo a capacidade de ativar a cascata do complemento, a glicosilação do Fc, a especificidade do antígeno e a avidéz do anticorpo, bem como a subclasse de IgG. Hemácias revestidas com IgG1 e IgG3 são rapidamente reconhecidas para fagocitose, levando a um maior potencial de destruição dos glóbulos vermelhos.

Pacientes que apresentam anticorpos dirigidos a antígenos de alta frequência ou múltiplos anticorpos podem necessitar urgentemente de transfusão sanguínea, limitando a disponibilidade de unidades raras de RBC. Nesses casos, avaliar *in vitro* a relevância biológica dos anticorpos anti eritrocitários pode ser uma ferramenta importante para atender às necessidades de transfusão.

OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi mapear a relevância biológica de anticorpos anti-eritrocitários de diferentes especificidades usando testes de fagocitose *in vitro* e verificar se a presença das subclasses IgG1 ou IgG3 se correlaciona com os resultados dos ensaios celulares.



MÉTODOS

Pacientes apresentando anticorpos direcionados a antígenos de alta frequência ou de baixa frequência foram testados quanto à presença das subclasses IgG1 ou IgG3 usando cartões de gel IgG1/IgG3 projetados para o teste direto de antiglobulina e hemácias incompatíveis sensibilizadas, denominados aqui teste IAT modificado para IgG1 e IgG3. Um ensaio de monocamada de monócitos (MMA) foi testado em paralelo, e os resultados foram expressos no índice de monócitos (IM). Um resultado positivo no MMA, significando risco de hemólise in vivo, foi considerado em casos de IM>5%.

RESULTADOS

Um total de 17 pacientes apresentando anticorpos contra antígenos de alta frequência (anti-Ge2 n=7; anti-Jo^a n=2; anti-Yt^a n=2 e anti-Vel; anti-hrS; anti-Jr^a e anti-Lw^a, todos com n=1) ou antígenos de baixa frequência (anti-VS / n=1) foram incluídos. Destes, 64% (n=11/17) testaram positivo para IgG1 ou IgG3 e 62,5% (n=10/16) foram associados a IM>5% no MMA.

Os anticorpos anti-Vel; -VS; -hrS; -Jr^a foram todos considerados relevantes no MMA. 42,9% dos casos anti-Ge2 testaram positivo no MMA e 71,4% eram IgG1 ou IgG3. Metade dos casos anti-Yt^a e anti-Jo^a testaram positivo no MMA. A presença de IgG1 ou IgG3 correlacionou-se com os resultados do MMA, apresentando sensibilidade de 78% (IC 95% 0,4-0,96) e valor preditivo positivo (VPP) de 77%. Se fossem excluídas as amostras que reagiram muito fracamente (w ou menos) na coluna de controle de IgG, a sensibilidade do teste de IgG1 e IgG3 para detectar anticorpos relevantes aumentaria para 100% (IC95% 0,56-1) com valor preditivo negativo (VPN) de 100%.



CONCLUSÃO

1. A relevância biológica dos anticorpos de hemácias varia e a avaliação *in vitro* da nocividade de certos anticorpos pode ser uma ferramenta interessante para casos difíceis e com necessidade urgente de transfusão;
2. Anti-Ge2 é relatado na literatura como não prejudicial, mas a presente análise *in vitro* desses anticorpos contradiz essa hipótese;
3. Embora o MMA seja o padrão-ouro para prever a relevância clínica dos anticorpos de hemácias, a detecção da presença das subclasses IgG1 ou IgG3 tem alta precisão para identificar casos positivos de MMA.

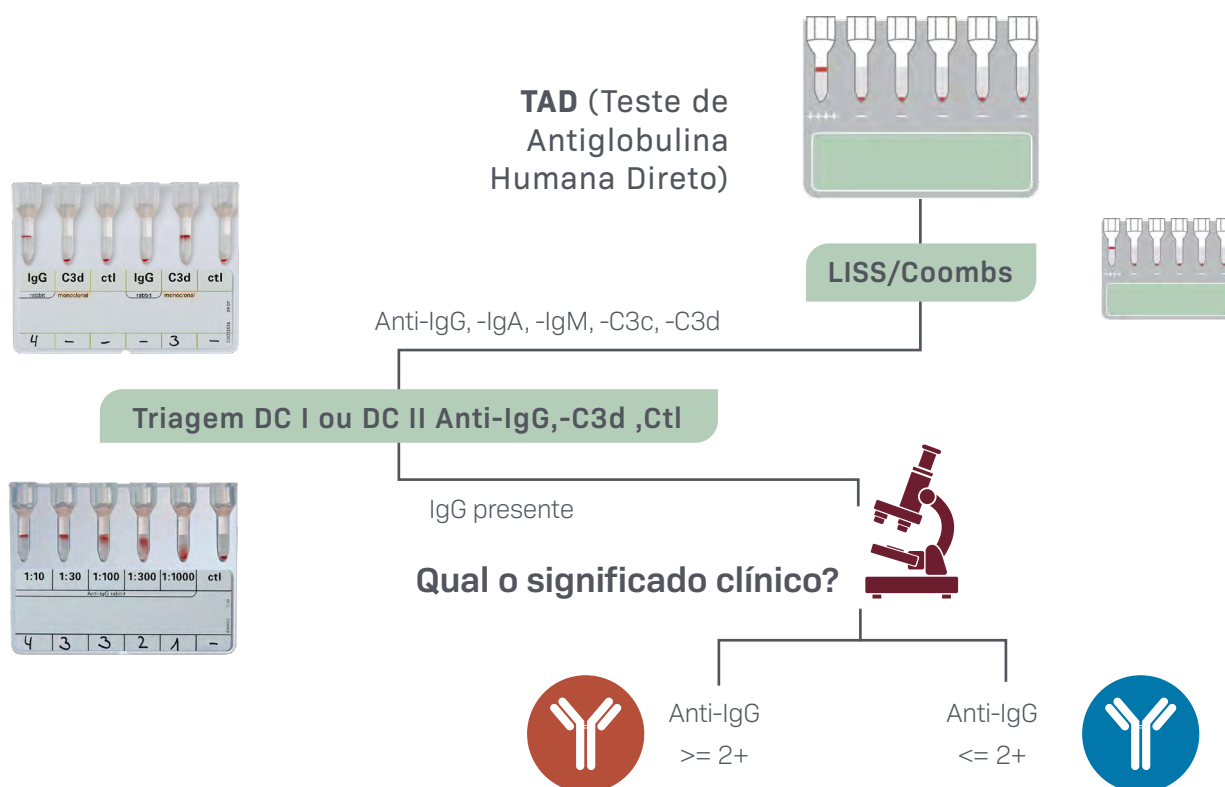


Algoritmo de Interpretação do Teste de Antiglobulina Direta (TAD) com Presença de IgG

Este algoritmo serve como um guia para a avaliação da significância clínica dos resultados do TAD, especialmente quando a IgG está envolvida.

PASSO 1 REALIZAÇÃO DO TESTE INICIAL

Teste: Teste direto de antiglobulina (TAD) usando cartão LISS/Coombs (anti-IgG+C3d)



PASSO 2

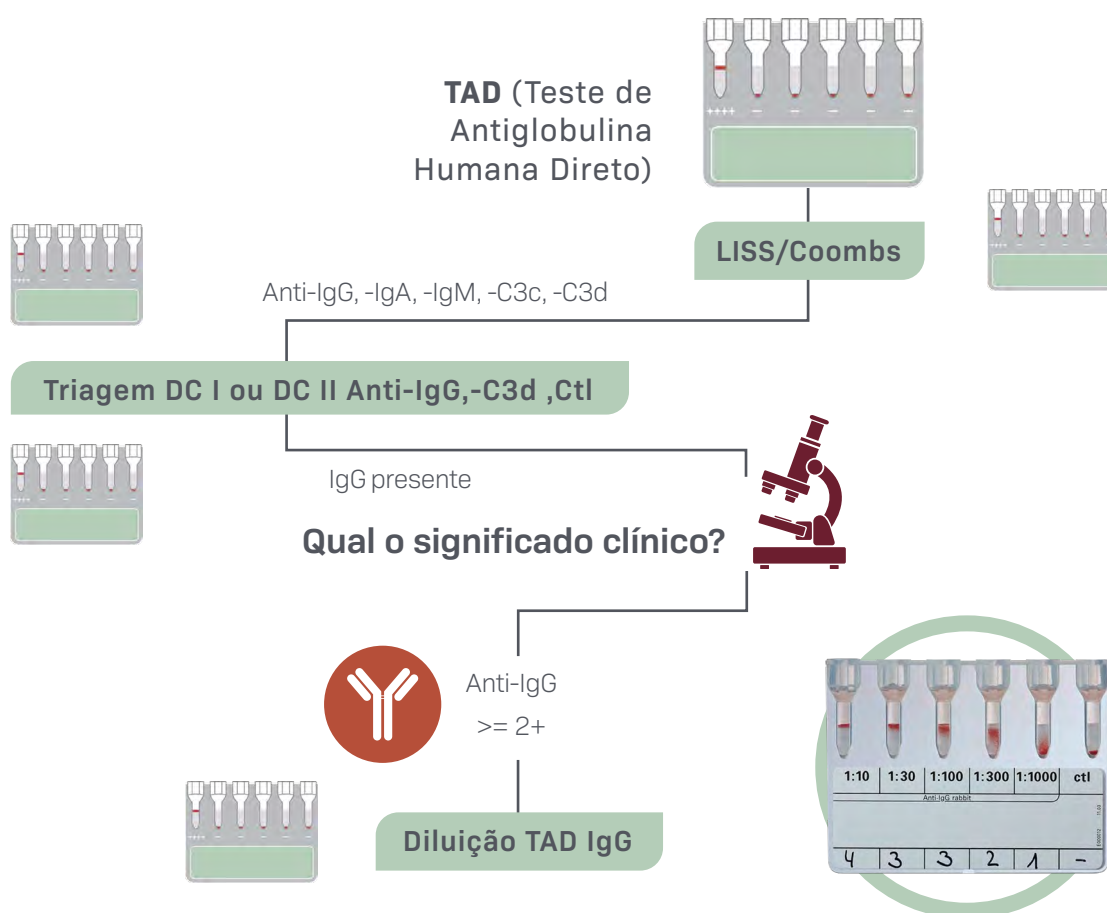
DETERMINAÇÃO CLASSE DO ANTICORPO FRAÇÃO DE COMPLEMENTO (DC Screening I ou DC Screening II)

Resultado: Presença de IgG.

Questão Fundamental: Existe significância clínica?

• Se Anti-IgG for $\leq 2+$

- **Resultado:** Risco baixo para hemólise.
- **Significado:** Uma reação fraca ou ausente de Anti-IgG sugere que, embora a IgG esteja presente, sua ligação aos eritrócitos pode não ser suficiente para causar hemólise clinicamente significativa.

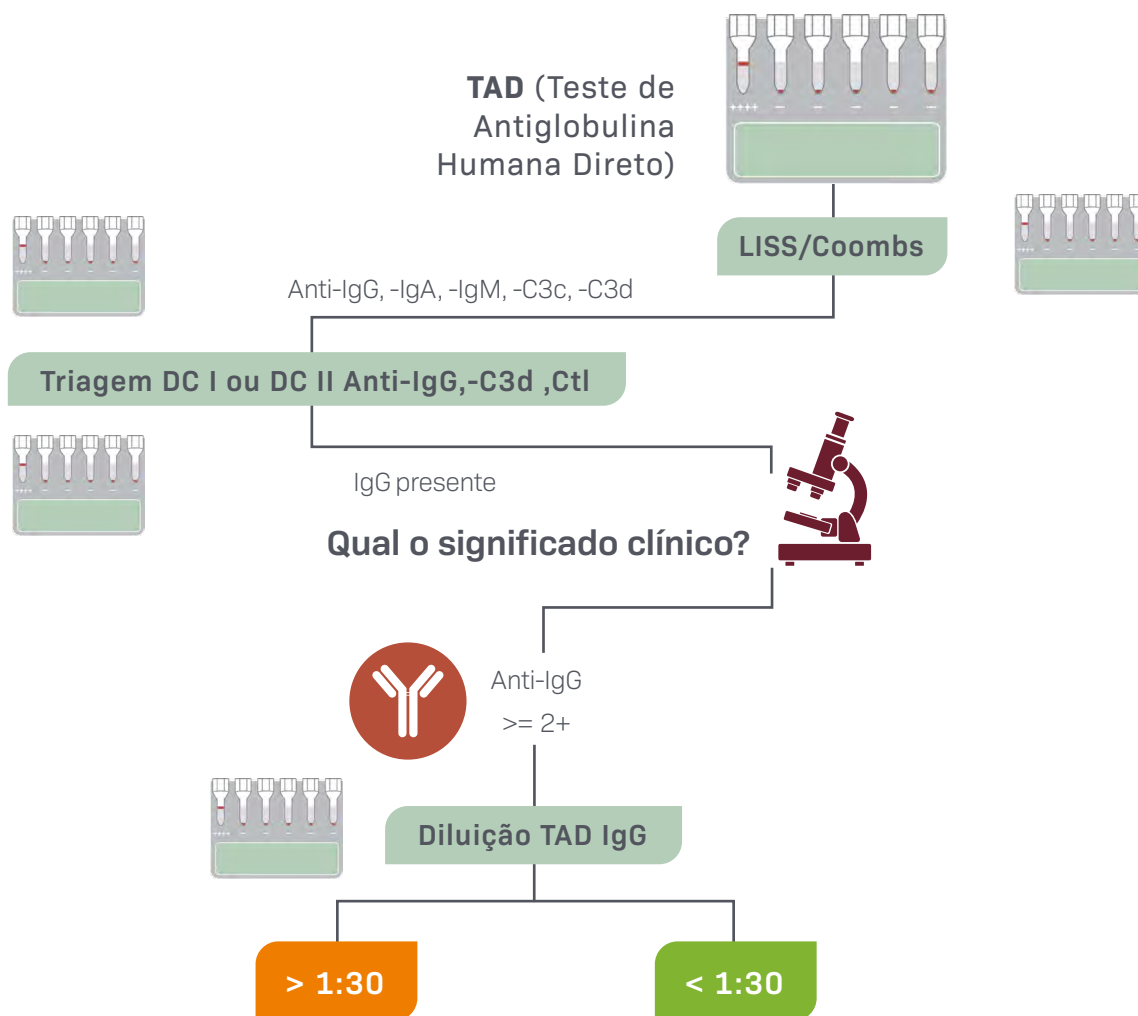


• Se Anti-IgG for $\geq 2+$

- **Procede-se** para o Teste de Diluição de IgG (DAT IgG Dilution).
- **Significado:** Uma reação mais forte de Anti-IgG ($\geq 2+$) indica uma maior ligação de IgG aos eritrócitos, o que levanta a possibilidade de hemólise e requer investigação adicional para quantificação dos anticorpos.

PASSO 4

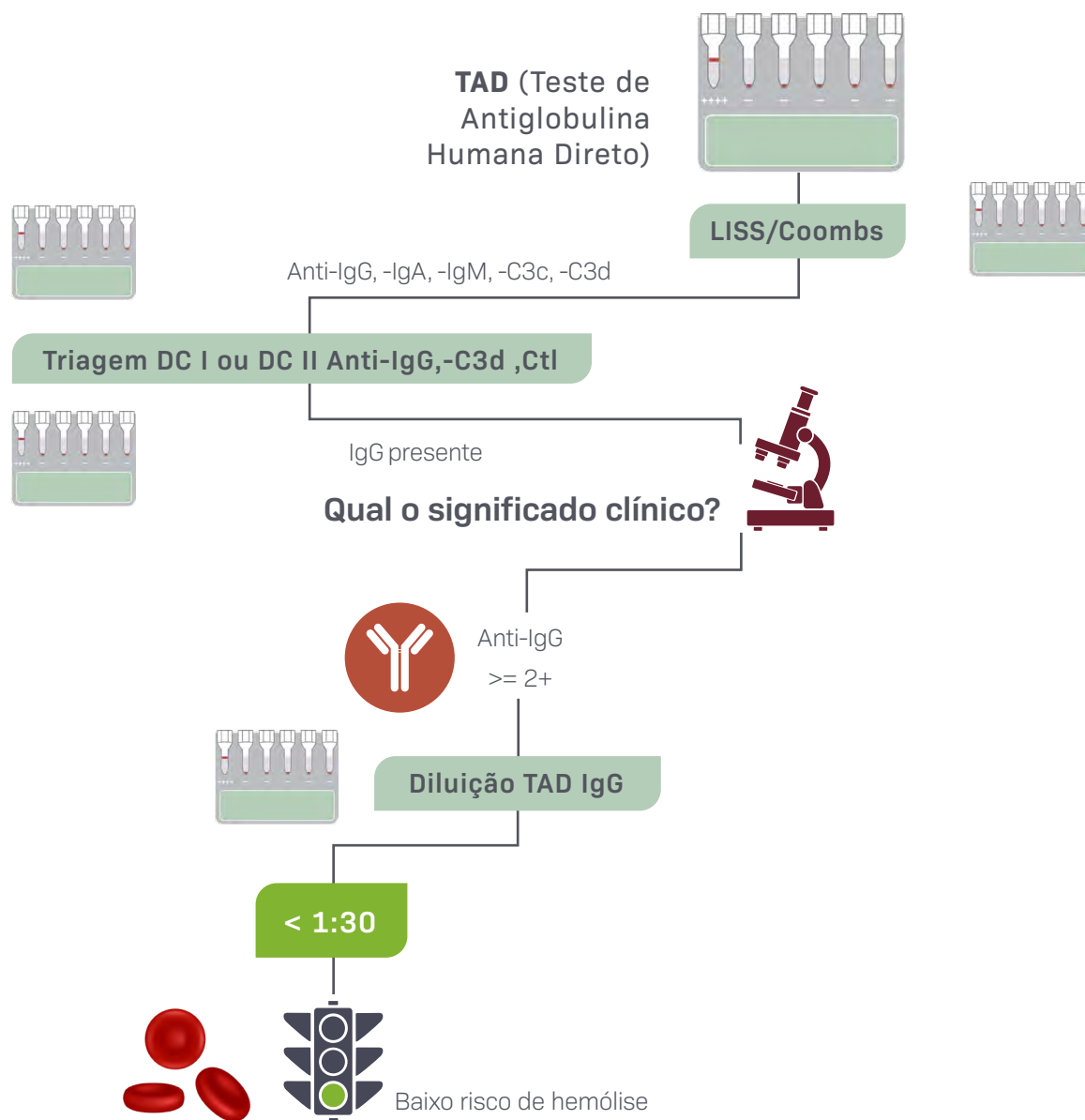
AVALIAÇÃO DA TITULAÇÃO DE IgG (Para casos de Anti-IgG $\geq 2+$)



- Titulação de IgG do TAD for $< 1:30$
- Titulação de IgG do TAD for $> 1:30$

PASSO 4

AVALIAÇÃO DA TITULAÇÃO DE IgG (Para casos de Anti-IgG $\geq 2+$)

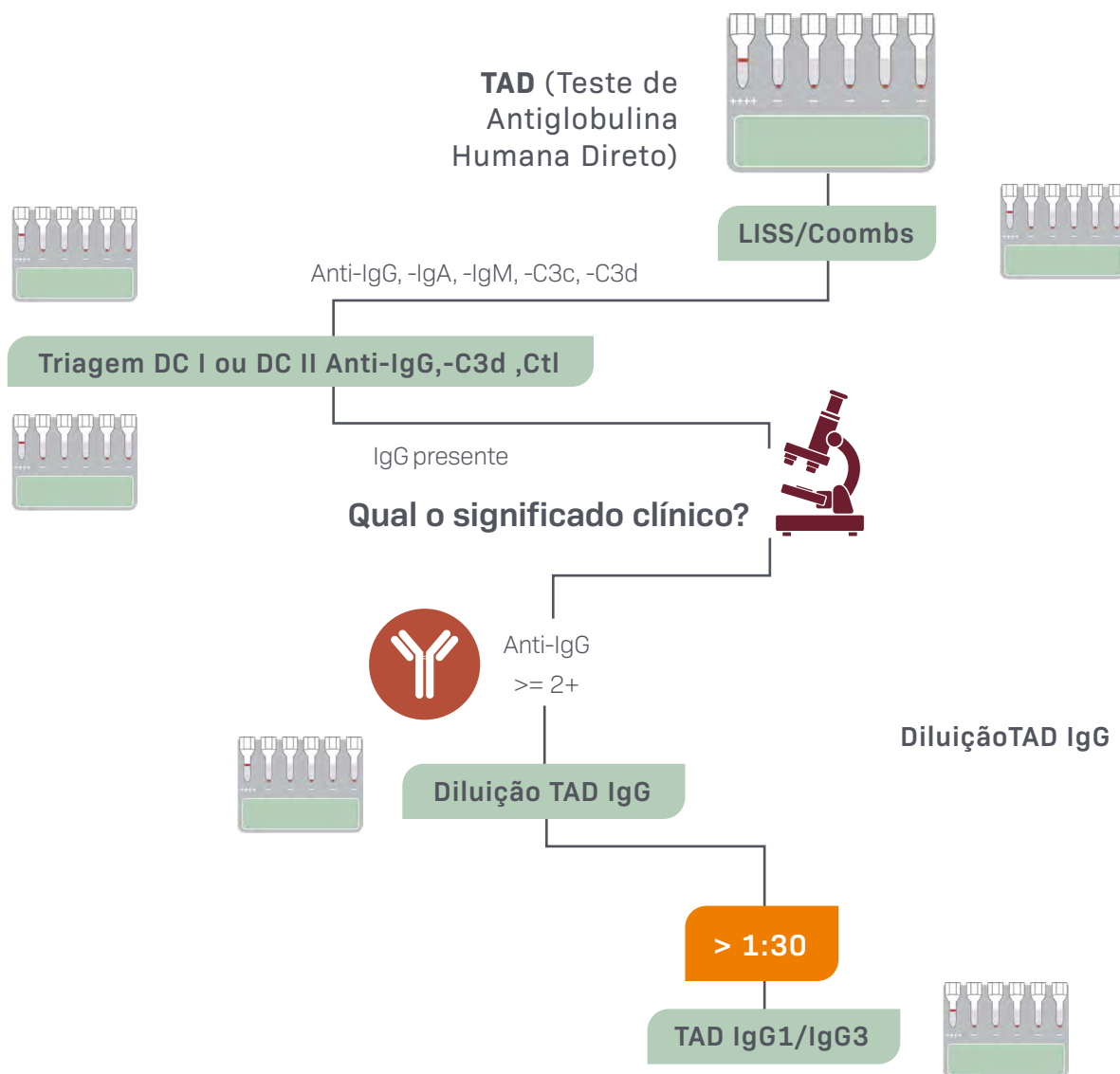


- Se a Titulação de IgG do TAD for **< 1:30**

- **Resultado:** Risco baixo para hemólise

PASSO 4

AVALIAÇÃO DA TITULAÇÃO DE IgG (Para casos de Anti-IgG $\geq 2+$)



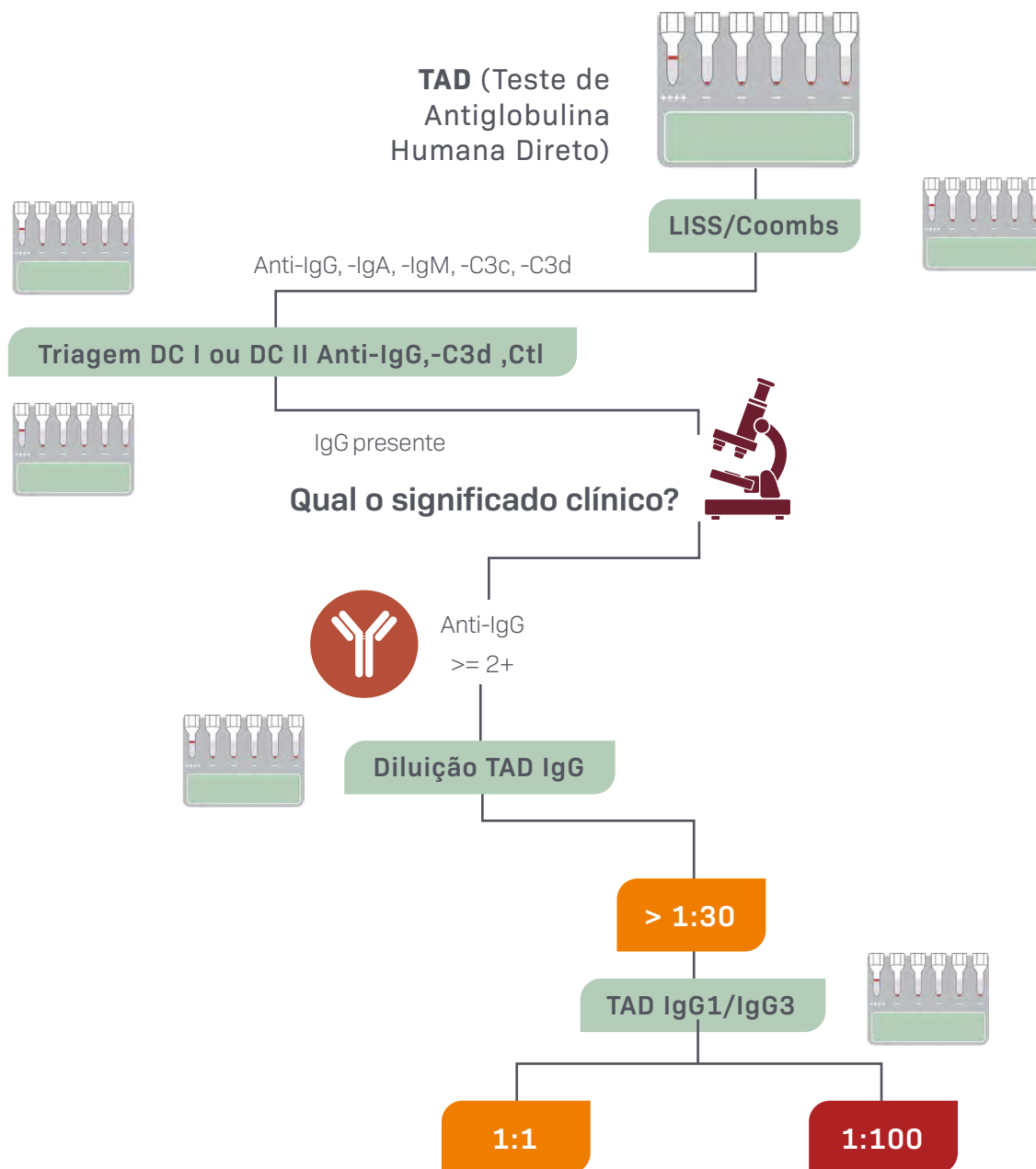
• Se a Titulação de IgG do TAD for > 1:30

- **Encaminhamento:** Procede-se o Teste de DAT IgG1/IgG3.
- **Significado:** Isso sugere um risco aumentado de hemólise e justifica uma investigação mais aprofundada sobre as subclasses de IgG envolvidas.



PASSO 5

AVALIAÇÃO DA SUBCLASSE IGG: IgG1/IgG3 (Para casos de Título de IgG do TAD > 1:30)

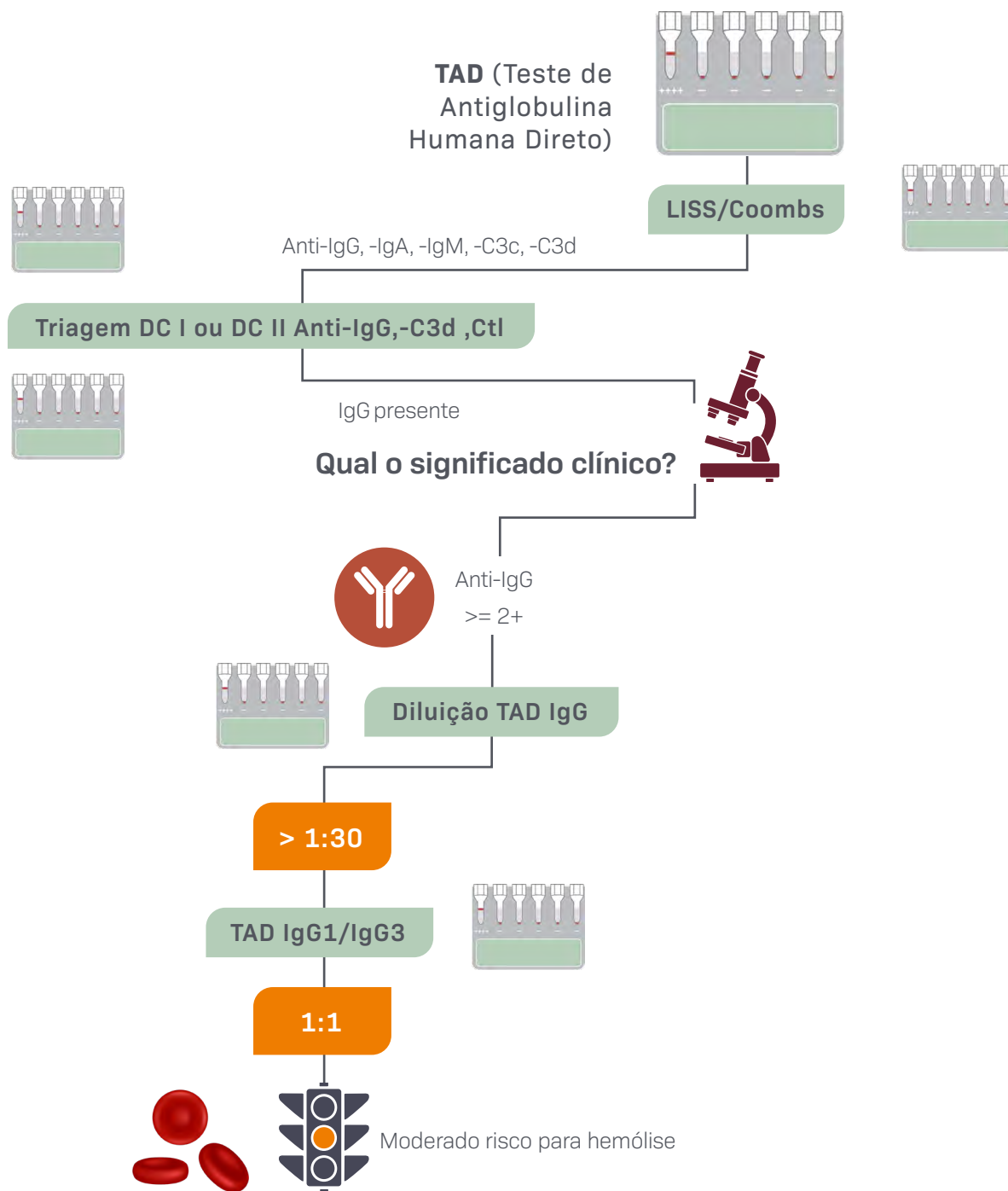


- Para os casos com alto título de IgG, a próxima etapa é analisar as subclasses IgG1 e IgG3, que são clinicamente mais relevantes para a ativação do complemento e, conseqüentemente, causar hemólise.

- Se a relação IgG1/IgG3 for 1:1
- Se a relação IgG1/IgG3 for 1:100

PASSO 5

AVALIAÇÃO DA SUBCLASSE IGG: IgG1/IgG3 (Para casos de Título de IgG do TAD > 1:30)

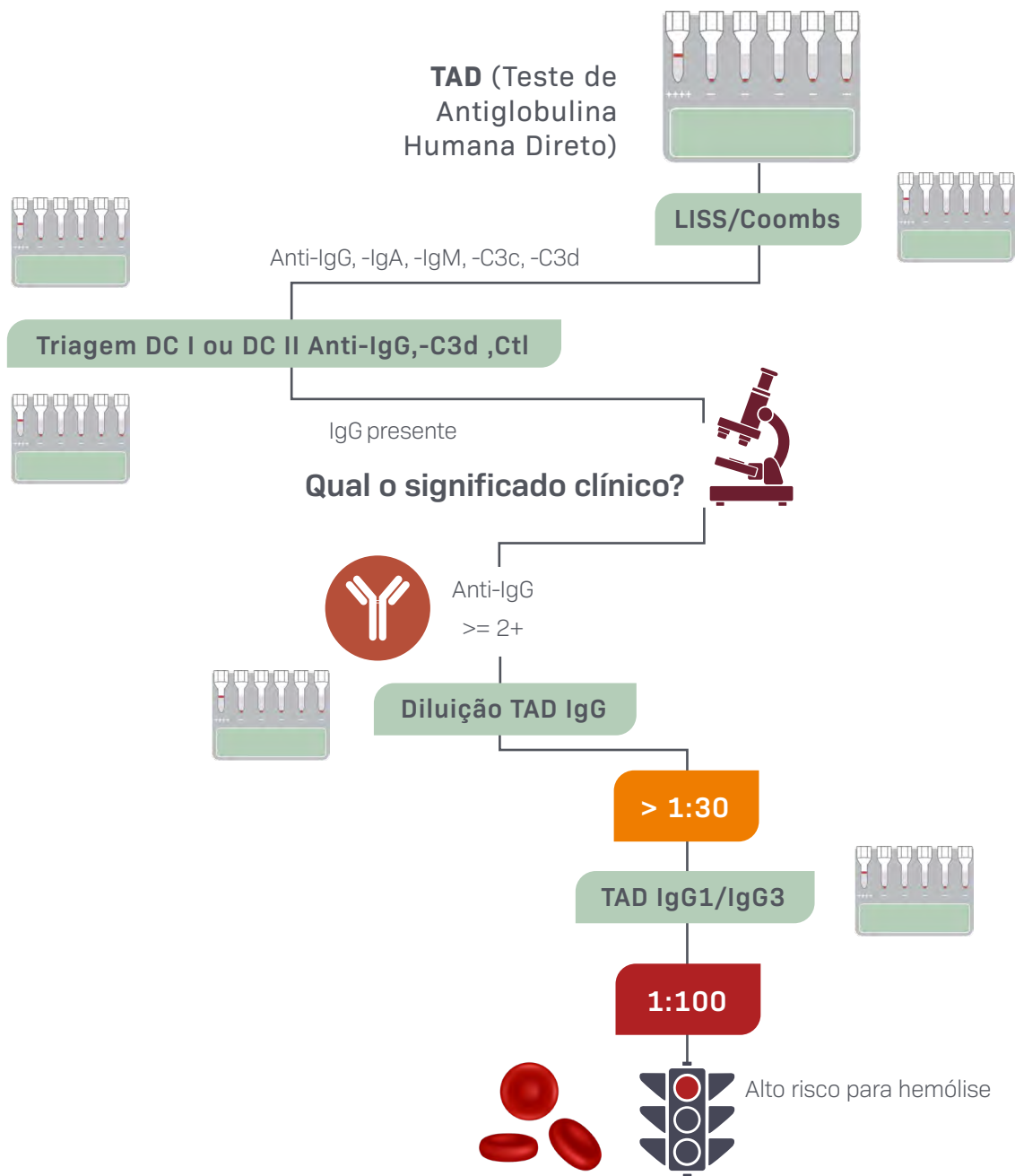


● Se a relação IgG1/IgG3 for 1:1

- **Resultado:** Risco moderado para hemólise.

PASSO 5

AVALIAÇÃO DA SUBCLASSE IGG: IgG1/IgG3 (Para casos de Título de IgG do TAD > 1:30)



• Se a relação IgG1/IgG3 for 1:100

- **Resultado:** Risco alto para hemólise.
- **Significado:** A IgG3 é particularmente eficiente na ativação do complemento, o que pode levar a uma hemólise mais severa e rápida.

RESUMO DOS POSSÍVEIS RESULTADOS FINAIS E RISCOS ASSOCIADOS:

1 - Baixo Risco para Hemólise:

- Anti-IgG $\leq$ 2+
OU
- Anti-IgG $\geq$ 2+ E Diluição de IgG do TAD $< 1:30$

2 - Risco Moderado para Hemólise:

- Anti-IgG $\geq$ 2+ E Diluição de IgG do TAD $> 1:30$
E Relação TAD IgG1/IgG3 = 1:1

3 - Alto Risco para Hemólise:

- Anti-IgG $\geq$ 2+ E Diluição de IgG do DAT $> 1:30$
E Relação TAD IgG1/IgG3 = 1:100



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS E RECOMENDADAS

Lapierre, Y. (1993). Les tests en gel et leur évolution. *Transfusion Clinique Et Biologique*, 1 (2), 115-119. [https://doi.org/10.1016/S1246-7820\(94\)80006-5](https://doi.org/10.1016/S1246-7820(94)80006-5)

Novaretti, M. C. Z., Silveira, E. J., Filho, E. C., Dorhiac-Llacer, P. E., & Chamone, D. A. (2020). Comparison of tube and gel techniques for antibody identification.. *Immunohematology / American Red Cross*, 16 (4), 138-141. <https://doi.org/10.21307/IMMUNOHEMATOLOGY-2019-595>

Garratty, G. (2008). The James Blundell Award Lecture 2007: Do we really understand immune red cell destruction? *Transfusion Medicine (Oxford, England)*, 18, 321-334. doi: 10.1111/j.1365-3148.2008.00891.x

Barcellini, W. (2015). New insights in the pathogenesis of autoimmune hemolytic anemia. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 42, 287-293. doi: 10.1159/000439002

Branch, D. R., Gallagher, M. T., Mison, A. P., Sy Siok Hian, A. L., & Petz, L. D. (1984). *In vitro* determination of red cell alloantibody significance using an assay of monocyte-macrophage interaction with sensitized erythrocytes. *British Journal of Haematology*, 56, 19-29. doi: 10.1111/j.1365-2141.1984.tb01268.x

Flegel, W. A. (2015). Pathogenesis and mechanisms of antibody-mediated hemolysis. *Transfusion*, 55, S47-S58. doi: 10.1111/trf.13147

Lucas, G. F., Hadley, A. G., Nance, S. J., & Garratty, G. (1993). Predicting hemolytic disease of the newborn: A comparison of the monocyte monolayer assay and the chemiluminescence test. *Transfusion*, 33, 484-487. doi: 10.1046/j.1537-2995.1993.33693296810.x

Tong, T. N., Burke-Murphy, E., Sakac, D., Pendergrast, J., Cserti-Gazdewich, C., Laroche, V., & Branch, D. R. (2016). Optimal conditions for the performance of a monocyte monolayer assay. *Transfusion*, 56, 2680-2690. doi: 10.1111/trf.13766

Tong, T. K., & Branch, D. R. (2017). Use of a monocyte monolayer assay to evaluate Fcγ receptor-mediated phagocytosis. *Journal of Visualized Experiments*, 119, e55039. doi: 10.3791/55039

Tong, T. N., Cen, S., & Branch, D. R. (2019). The monocyte monolayer assay: Past, present and future. *Transfusion Medicine Reviews*, 33, 24-28. doi: 10.1016/j.tmr.2018.07.004

Zupanska, B. (1985). Assays to predict the clinical significance of blood group antibodies. *Current Opinion in Hematology*, 5, 412-416. doi: 10.1097/00062752-199811000-00010



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS E RECOMENDADAS:

Zupanska, B. (1993). Clinical application of functional assays for assessing the red cell antibody activity. *Transfusion Science*, 14, 371–381. doi: 10.1016/S0955-3886(05)80010-4

Boligan, K. F., Sandhu, G., & Branch, D. R. (2022). Methods to evaluate the potential clinical significance of antibodies to red blood cells. *Current Protocols*, 2, e504. doi: 10.1002/cpz1.504

Determination of the amount of IgG-antibodies bound to red cells and of the subclasses IgG1 and IgG3: comparison of the gel centrifugation test (GCT) with flow cytometry (FC); R. Lynen, Georg-August-Universität Göttingen, Germany; published at the ISBT 2000 Vienna

A newly developed gel centrifugation test for quantification of RBC-bound IgG antibodies and their subclasses IgG1 and IgG3: comparison with flow cytometry; published at the Transfusion Volume 42, May 2002

Lai, M., Leone, G., & Landolfi, R. (2013). Autoimmune hemolytic anemia with gel-based immunohematology tests. *American Journal of Clinical Pathology*, 139(4), 457–463. <https://doi.org/10.1309/AJCPTU9AEQZXVZD4>

Shao, Y., Qi, X., Fu, R., Liu, H., Wang, Y., Ding, S., Wang, H., Li, L., & Shao, Z. (2018). Demonstration of IgG Subclass (IgG1 and IgG3) in Immuno-Related Hemocytopenia. *Clinical Laboratory*, 64(6), 1041–1048. <https://doi.org/10.7754/CLIN.LAB.2018.180121>

Finck, R. H., Davis, R., Teng, S., Goldfinger, D., Ziman, A., Lu, Q., & Yuan, S. (2018). Performance of an automated solid-phase red cell adherence system compared with that of a manual gel microcolumn assay for the identification of antibodies eluted from red blood cells.. *Immunohematology / American Red Cross*, 27 (1), 1-5. <https://doi.org/10.21307/IMMUNOHEMATOLOGY-2019-167>

Finck, R. H., Davis, R., Teng, S., Goldfinger, D., Ziman, A., Lu, Q., & Yuan, S. (2018). Performance of an automated solid-phase red cell adherence system compared with that of a manual gel microcolumn assay for the identification of antibodies eluted from red blood cells.. *Immunohematology / American Red Cross*, 27 (1), 1-5. <https://doi.org/10.21307/IMMUNOHEMATOLOGY-2019-167>

Hassan, M. A., Gahtani, F., & Gader, A. G. M. A. (2011). The frequency of alloantibodies in pregnant and multi-transfused patients - a comparative study between the id-micro typing gel system and the conventional tube method. *Journal of Applied Hematology*, 2 (3), .

Im, B. (1992). Gel techniques in blood group serology.. *Medical laboratory sciences*, 49 (2), 129-132.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS E RECOMENDADAS:

Jaiprakash, M., Gupta, P. K., & Kumar, H. (2006). Role of gel based technique for coomb's test. *Indian Journal of Pathology & Microbiology*, 49 (3), 370-372.

Judd, W. J., Steiner, E. A., & Knafl, P. C. (2020). The gel test: Sensitivity and specificity for unexpected antibodies to blood group antigens.. *Immunohematology / American Red Cross*, 13 (4), 132-135. <https://doi.org/10.21307/IMMUNOHEMATOLOGY-2019-728>

Judd, W. J., Steiner, E. A., Knafl, P. C., & C, M. (2020). The gel test: Use in the identification of unexpected antibodies to blood group antigens.. *Immunohematology / American Red Cross*, 14 (2), 59-62. <https://doi.org/10.21307/IMMUNOHEMATOLOGY-2019-661>

AUTORAS DA NEWSLETTER:

Ana Lúcia Girello

- Biomédica (UNISA-SP) e Publicitária (ESPM-SP), Mestre em Análises Clínicas (UNISA-SP). Pós-graduanda Lato Sensu em Design Instrucional e Aperfeiçoamento em Design Instrucional Sênior (Mercado EAD). Especialista em Desenho Publicitário (Escola Panamericana de Artes-SP).
- Diretora da empresa de Consultoria Byoline Corporation (SP) e sócia da Byoline Educação (SP).
- Co-autora do Livro Fundamentos da Imuno-hematologia Eritrocitária” (Ed. SENAC SP, 4a ed. 2016).
- Atua como Assessora e Consultora técnico- científica em imuno-hematologia e para Projetos de Educação Corporativa da Bio-Rad Laboratórios Brasil.

Regina Aparecida Cardoso:

- Biomédica (Universidade de Mogi das Cruzes-SP), Especialista em Imuno-hematologia (Hospital do Servidor Público Estadual-SP), Mestre em Biotecnologia Médica (UNESP/ Faculdade de Medicina Botucatu (SP), Doutoranda em Imuno-hematologia Clínica (Fundação Pró-Sangue/ Universidade de São Paulo).
- Sócia-proprietária da Byoline Educação (SP).
- Coordenadora do Laboratório de Imuno-hematologia Clínica da Fundação Pró-Sangue/ Hemocentro de São Paulo.
- Consultora da empresa Byoline Corporation



Bio-Rad
Laboratories, Inc.

Grupo de
Diagnóstico Clínico

Web site bio-rad.com **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 43 1 877 89 01 177 **Belgium** 32 (0)3 710 53 00 **Brazil** 55 11 3065 7550
Canada 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 420 241 430 532 **Denmark** 45 44 52 10 00 **Finland** 358 09 804 22 00
France 33 01 47 95 69 65 **Germany** 49 89 31 884 0 **Hong Kong** 852 2789 3300 **Hungary** 36 1 459 6100 **India** 91 124 4029300
Israel 972 03 963 6050 **Italy** 39 02 216091 **Japan** 81 3 6361 7000 **Korea** 82 2 3473 4460 **Mexico** 52 555 488 7670 **The Netherlands** 31 (0)318 540 666
New Zealand 64 9 415 2280 **Norway** 47 23 38 41 30 **Poland** 48 22 331 99 99 **Portugal** 351 21 472 7700 **Russia** 7 495 721 14 04
Singapore 65 6415 3188 **South Africa** 27 (0) 861 246 723 **Spain** 34 91 590 5200 **Sweden** 46 08 555 12700 **Switzerland** 41 026 674 55 05
Taiwan 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 662 651 8311 **United Arab Emirates** 971 4 8187300 **United Kingdom** 44 020 8328 2000